· 论著 ·

补肺益肾组分方Ⅲ组分配伍对慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重塑的干预作用研究

秦燕勤[1, 2]，董浩然[1, 2]，杨静帆[1]，李海博[1]，赵鹏[1, 2]，李建生[1, 3*]

1.450046 河南省郑州市，河南中医药大学 河南省中医药防治呼吸病重点实验室 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心
2.450046 河南省郑州市，河南中医药大学中医药科学院
3.450003 河南省郑州市，河南中医药大学第一附属医院呼吸与危重医学科
*通信作者：李建生，教授/博士生导师；E-mail：li_js8@163.com

【摘要】 **背景** 慢性阻塞性肺疾病（COPD）是重大慢性疾病，气道重塑是其重要病理机制。补肺益肾方对COPD疗效较好，其有效成分组成的补肺益肾组分方Ⅲ（ECC-BYF Ⅲ）与之疗效相当，可显著改善COPD模型大鼠气道重塑，但其组分配伍规律尚待揭示。**目的** 基于COPD大鼠模型评价ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对COPD气道重塑的干预作用。**方法** 将ECC-BYF Ⅲ组分分成补气、补肾、化痰、活血四类，按数学排列组合的方法将其分成不同的组分配伍组。2018年5—9月进行动物实验。216只SD大鼠随机分为正常、模型、ECC-BYF Ⅲ、不同组分配伍及氨茶碱组，共18组，每组12只。1~8周，采用香烟烟雾暴露联合反复细菌感染的方法制备COPD稳定期大鼠模型（正常组除外）；9~16周，给予相应的药物干预。苏木素-伊红（HE）染色技术观察气道壁及气道平滑肌变化；酶联免疫吸附试验（ELISA）检测血清中基质金属蛋白酶12（MMP-12）、碱性成纤维细胞生长因子（bFGF）及支气管肺泡灌洗液（BALF）中胶原蛋白（COL）-1、COL-3、MMP-12等气道重塑相关指标水平。Region（R）值综合评价各组分配伍对COPD大鼠气道重塑的干预作用。**结果** 与模型组比较，ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍、氨茶碱组大鼠气道壁厚度均降低，ECC-BYF Ⅲ组、补气化痰组、扶正化痰组、扶正活血组、补气祛邪组、氨茶碱组大鼠平均气道平滑肌细胞数减少（$P<0.05$）。与模型组比较，ECC-BYF Ⅲ组、补肾组、补气化痰组、补气活血组、补肾化痰组、补肾活血组血清bFGF水平降低，ECC-BYF Ⅲ组、扶正组血清MMP-12水平降低，ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍、氨茶碱组BALF MMP-12、BALF COL-1水平均降低，ECC-BYF Ⅲ组、补肾组、化痰组、活血组、扶正组、补气化痰组、补气活血组、补肾活血组、扶正化痰组、补气祛邪组、补肾祛邪组及氨茶碱组BALF COL-3水平均降低（$P<0.05$）。对COPD大鼠气道壁厚度、气道平滑肌增生情况、血清及BALF中所有气道重塑相关指标进行R值综合评价结果显示，除化痰、祛邪组分配伍外，ECC-BYF Ⅲ及其余组分配伍和氨茶碱组均可改善COPD大鼠气道重塑（$P<0.05$），以补气祛邪、扶正化痰、补气活血组分配伍改善COPD大鼠气道重塑效果较好。**结论** ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍可不同程度干预COPD大鼠气道重塑，其中以补气祛邪、扶正化痰、补气活血（均含补气类组分：人参皂苷Rh1和黄芪甲苷）组分配伍效果较为显著。

【关键词】 肺疾病，慢性阻塞性；补肺益肾组分方Ⅲ；气道重塑；组分配伍；大鼠
【中图分类号】 R 563.9　【文献标识码】 A　DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0868

The Evaluation of Effective-component Compatibility of Bufei Yishen Formula Ⅲ and Components Compatibility in Treating Airway Remodeling of COPD

QIN Yanqin[1, 2], DONG Haoran[1, 2], YANG Jingfan[1], LI Haibo[1], ZHAO Peng[1, 2], LI Jiansheng[1, 3]*
1.Henan Key Laboratory of Chinese Medicine for Respiratory Disease/Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P.R./Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

基金项目：国家自然科学基金资助项目（82104662，81973822）；河南省科技攻关项目（222102310141）；河南省博士后科研项目（202101046）
引用本文：秦燕勤，董浩然，杨静帆，等. 补肺益肾组分方Ⅲ组分配伍对慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重塑的干预作用研究[J]. 中国全科医学，2024. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0868.［Epub ahead of print］.［www.chinagp.net］
QIN Y Q, DONG H R, YANG J F, et al. The evaluation of effective-component compatibility of Bufei Yishen formula Ⅲ and components compatibility in treating airway remodeling of COPD［J］. Chinese General Practice, 2024.［Epub ahead of print］.



2.Academy of Chinese Medical Sciences，Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou 450046，China
3.Department of Respiratory and Critical Care Medicine，the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine，Zhengzhou 450003，China
**Corresponding Author：LI Jiansheng，Professor/Doctoral supervisor；E-mail：li_js8@163.com*

【Abstract】 **Background** Obstructive pulmonary disease（COPD）is a major chronic disease，and airway remodeling is an important pathological mechanism. Bufei Yishen formula and effective-component compatibility of Bufei Yishen formula Ⅲ（ECC-BYF Ⅲ）are effective for COPD treatment. ECC-BYF Ⅲ significantly improves airway remodeling of COPD model rats，however，the components compatibility remains to be revealed. **Objective** To evaluate the effect of ECC-BYF Ⅲ and components compatibility in treating airway remodeling of COPD based on the COPD rat model. **Methods** The components of ECC-BYF Ⅲ were divided into four categories：Buqi，Bushen，Huatan，and Huoxue. The four categories were divide into different groups according to the method of mathematical permutation. The animal experiment were performed during May to September in 2018. 216 SD rats were randomly divided into normal，model，ECC-BYF Ⅲ，different components compatibility and aminophylline groups，and 12 rats in each model. From week 1 to week 8，rat model of COPD in stable phase was established by cigarette smoke exposure combined with repeated bacterial infections. The rats were orally gavaged with corresponding drugs from week 9 to week 16. Hematoxylin eosin（HE）staining technique was used to observe the changes of bronchial wall and airway smooth muscle. Enzyme linked immunosorbent assay（ELISA）was used to detect the levels of matrix metalloprotein 12（MMP-12），basic fibroblast growth factor（bFGF）in serum and levels of collagen（COL）-1，COL-3，and MMP-12 in bronchoalveolar lavage fluid（BALF）. Region（R）value comprehensive evaluation method was used to evaluate the effect of different component compatibility on airway remodeling in COPD rats. **Results** ECC-BYF Ⅲ，different components compatibility and aminophylline weakened the thickness of airway wall，when compared to model group. ECC-BYF Ⅲ，Buqi Huatan，Fuzheng Huatan，Fuzheng Huoxue，Buqi Quxie and aminophylline significantly decreased the number of airway smooth muscle hyperplasia（$P<0.05$）. When compared to model group，the level of bFGF in serum decreased in ECC-BYF Ⅲ，Bushen，Buqi Huatan，Buqi Huoxue，Bushen Huatan，and Bushen Huoxue groups. The level of MMP-12 in serum decreased ECC-BYF Ⅲ，Fuzheng groups. The levels of MMP-12，COL-1 in BALF decreased in ECC-BYF Ⅲ，different components compatibility and aminophylline groups. The level of COL-3 in BALF decreased in ECC-BYF Ⅲ，Bushen，Huatan，Huoxue，Fuzheng，Buqi Huatan，Buqi Huoxue，Bushen Huoxue，Fuzheng Huatan，Buqi Quxie，Bushen Quxie，and aminophylline groups（$P<0.05$）. The results of R-value comprehensive evaluation about airway wall thickness，airway smooth muscle hyperplasia，indicators related to airway remodeling in serum and BALF in COPD rats showed that the components compatibility，except for Huatan，Quxie，ECC-BYF Ⅲ，other components compatibility and aminophylline improved the airway remodeling of COPD rats（$P<0.05$）. Buqi Quxie，Fuzheng Huatan，and Buqi Huoxue showed better effects in improving airway remodeling in COPD rats. **Conclusion** ECC-BYF Ⅲ and its components compatibility showed different effects on airway remodeling in COPD rats. Buqi Quxie，Fuzheng Huatan，Buqi Huoxie（containing ginsenoside Rh1，astragaloside）showed better effects.

【Key words】 Pulmonary disease，chronic obstructive；ECC-BYF Ⅲ；Airway remodeling；Components compatibility；Rats

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）是以不完全可逆性气流受限为主要特征的可以预防和治疗的疾病。气道重塑是COPD的重要病理机制，与COPD气道狭窄和不可逆性气流受限密切相关。气道重塑主要发生在小气道，是气道受损引起的气道壁结构变化和反复修复的过程，以气道结构变化、气道壁增厚、管腔狭窄为主要特征[1-2]。气道重塑的机制尚不完全清楚，目前认为与炎症反应、氧化应激、蛋白酶/抗蛋白酶失衡、细胞外基质沉积等有关[3-5]。多种病理环节导致的气道重塑引起气道管腔狭窄，使气流阻力增加，气流受限，最终形成不可逆的慢性气流阻塞，是COPD病情发展和转折的重要环节[6]。因此，有效干预气道重塑将是治疗COPD的重要手段。补肺益肾方是临床治疗COPD的有效方剂，可减轻患者临床症状，减低急性加重次数，提高患者生存质量[7-8]。中药有效组分配伍组成的组分方是研发现代中药的新模式，便于进行药物质量控制，有助于阐释药物作用机制。本课题组前期基于系统药理学方法并结合体内外实验，在补肺益肾方的基础上经补肺益肾组分方（effective-component compatibility of Bufei Yishen formula，ECC-BYF）Ⅰ、ECC-BYF Ⅱ[9-11]，优化成由人参皂苷Rh1、黄芪甲苷、淫羊藿苷、川陈皮素、丹皮酚组成的ECC-BYF Ⅲ[12]。前期研究发现ECC-BYF Ⅲ对COPD大鼠有较好的疗效，且能显著抑制COPD大鼠气道重塑[13]，但其组分配伍

对 COPD 气道重塑的干预特点仍需进一步研究。

鉴于上述原因，本研究在中医理论指导下，按原单味药功效，将 ECC-BYF Ⅲ分成补气类代表组分（人参皂苷 Rh1、黄芪甲苷）、补肾类代表组分（淫羊藿苷）、化痰类代表组分（川陈皮素）和活血类代表组分（丹皮酚）4 类，进行不同组分配伍，基于香烟烟雾暴露联合反复细菌感染诱导的 COPD 稳定期大鼠模型，评价 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍干预 COPD 气道重塑的配伍特点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 动物：SPF 级 SD 大鼠 216 只，体质量（200±20）g，雌雄各半，购于河南省实验动物中心（SCXK［豫］2017-0001）。所涉及实验已通过河南中医药大学第一附属医院实验动物福利伦理审查委员会审查（伦理审查批准编号：YFYDW2019031）。

1.1.2 香烟与细菌：红旗渠过滤嘴香烟（硬金红，河南中烟工业有限责任公司生产，烤烟型，焦油含量 11 mg，烟气烟碱含量 0.9 mg，烟气一氧化碳含量 11 mg）；肺炎克雷伯杆菌（菌株号：46117），由中国药品生物制品检定院中国医学细菌保藏管理中心提供。

1.1.3 主要药品与试剂：人参皂苷 Rh1（CHB180608）购于成都克洛玛生物科技有限公司；黄芪甲苷（MUST-17022804）、淫羊藿苷（MUST-16111710）、丹皮酚（MUST-16071405）购于成都曼斯特生物科技有限公司；川陈皮素（HL-20170312）购于西安汇林生物科技有限公司；氨茶碱片（100 mg/片×100 片）购于山东新华制药股份有限公司。伊红染色液（71014544）、二甲苯（10023428）、无水乙醇（10009218）、中性树胶（10004160）等由国药集团化学试剂有限公司提供；苏木素染色液（H9627）由美国 Sigma 公司提供。大鼠基质金属蛋白酶 12（matrix metalloprotein 12，MMP-12）、酶联免疫吸附试验（ELISA）Kit（E-EL-R0044c）、大鼠碱性成纤维细胞生长因子（basic fibroblast growth factor，bFGF） ELISA Kit（E-EL-R0091c）、大鼠胶原蛋白（collagen，COL）-1 ELISA Kit（E-EL-R0233c）、大鼠 COL-3 ELISA Kit（E-EL-R0233c）购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.1.4 主要实验仪器：IVC-Ⅱ型动物饲养笼具（冯氏实验动物设备有限公司，苏州）；ELX800UV 型酶标仪（BIO-TEK，美国）；RM2145 型自动切片机（Leica，德国）；DMI3000 B 型荧光显微镜（Leica，德国）。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与药物干预：于 2018 年 5 月至 2018 年 9 月进行动物实验，大鼠饲养条件为：温度（25±2）℃，相对湿度（50±10）%，给予无菌水及饲料常规饲养，每日更换垫料。适应性饲养一周后，将大鼠随机分为 18 组，每组 12 只，雌雄各半。1~8 周采用香烟烟雾暴露联合反复细菌感染的方法制备 COPD 稳定期大鼠模型，每 4 周检测大鼠肺功能，根据肺功能变化评价模型是否成功[14]（正常组除外）。9~16 周各组给予相应的药物干预。采用等效剂量系数换算公式计算；公式为：D 大鼠 =D 人 ×（HI 大鼠 /HI 人）×（W 大鼠 /W 人）2/3，D 表示剂量，HI 表示体型系数，W 表示体质量。动物分组与药物干预具体情况见表 1。

1.2.2 大鼠取材：第 17 周，药物干预结束后取材（每组 6 只），取材前一天大鼠禁食禁水。大鼠麻醉后，经腹主动脉采血，分离血清；取出肺组织，结扎右支气管，预冷的 1× 磷酸盐缓冲液（phosphate buffered solution，PBS）灌注左肺 3 次，收集支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF），离心后取上清，保存于 -80℃备用。

表 1 大鼠分组与药物干预

Table 1 Groups of rats and drug intervention

组别	只数	灌胃药物及灌胃量
正常组	12	0.9% 氯化钠溶液（雄鼠 2 mL/ 次，雌鼠 1.5 mL/ 次）
模型组	12	0.9% 氯化钠溶液（雄鼠 2 mL/ 次，雌鼠 1.5 mL/ 次）
ECC-BYF Ⅲ组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 淫羊藿苷 + 川陈皮素 + 丹皮酚（5.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补气组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷（1.18 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补肾组	12	淫羊藿苷（3.92 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
化痰组	12	川陈皮素（0.16 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
活血组	12	丹皮酚（0.25 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
扶正组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 淫羊藿苷（5.10 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
祛邪组	12	川陈皮素 + 丹皮酚（0.40 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补气化痰组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 川陈皮素（1.34 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补气活血组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 丹皮酚（1.43 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补肾化痰组	12	淫羊藿苷 + 川陈皮素（4.08 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补肾活血组	12	淫羊藿苷 + 丹皮酚（4.17 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
扶正化痰组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 淫羊藿苷 + 川陈皮素（5.26 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
扶正活血组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 淫羊藿苷 + 丹皮酚（5.35 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补气祛邪组	12	人参皂苷 Rh1+ 黄芪甲苷 + 川陈皮素 + 丹皮酚（1.58 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
补肾祛邪组	12	淫羊藿苷 + 川陈皮素 + 丹皮酚（4.32 mg·kg^{-1}·d^{-1}）
氨茶碱组	12	氨茶碱（54 mg·kg^{-1}·d^{-1}）

注：ECC-BYF= 补肺益肾组分方。

1.2.3 常规苏木素 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染色：左肺进行 4% 多聚甲醛灌注固定，蜡块包埋，切 4 μm 切片，进行常规 HE 染色。显微镜下选择直径

200~400 μm 形状规则的气道，测量其内径和外径，根据公式：气道壁厚度（μm）= 外径长 – 内径长，计算气道壁厚度。测量气道外周长及内周长，统计气道平滑肌细胞数，根据公式：平均气道平滑肌细胞数（个/mm）=（细胞总数）/（外周长 – 内周长），计算平均气道平滑肌细胞数。

1.2.4 ELISA 法检测血清 bFGF、MMP-12 及 BALF 中 MMP-12、COL-1、COL-3 水平。

1.3 Region（R）值综合评价

采用 R 值综合评价法（著作权号：国作登字 -2013-A-00096833）对大鼠血清及 BALF 中气道重塑相关指标、及总指标进行综合评价。R 值综合评价法是根据疾病对指标的影响和药物对指标的纠正作用，计算药物对指标的纠正强度，综合考察药物对多个指标的综合作用[15]。

1.4 统计学方法

实验数据采用 IBM SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析。计量资料方差齐者采用最小显著差法（least significant difference，LSD），方差不齐经数据转化后用 LSD 法以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析，显著性水准取 α=0.05。

2 结果

2.1 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠病理变化的影响

18 组大鼠气道壁厚度、平均气道平滑肌细胞数比较，差异有统计学意义（P<0.05）。与正常组比较，模型组大鼠气道壁增厚，平均气道平滑肌细胞数增多，差异有统计学意义（P<0.05）；与模型组比较，ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍、氨茶碱组大鼠气道壁厚度均降低，ECC-BYF Ⅲ组、补气化痰组、扶正化痰组、扶正活血组、补气祛邪组、氨茶碱组大鼠平均气道平滑肌细胞数减少，差异有统计学意义（P<0.05），见表 2、图 1。

2.2 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠血清及 BALF 气道重塑指标的影响

18 组大鼠血清 bFGF、血清 MMP-12、BALF MMP-12、BALF COL-1、BALF COL-3 水平比较，差异有统计学意义（P<0.05）。与正常组比较，模型组大鼠血清 bFGF、血清 MMP-12、BALF MMP-12、BALF COL-1、BALF COL-3 水平均升高，差异有统计学意义（P<0.05）；与模型组比较，ECC-BYF Ⅲ组、补肾组、补气化痰组、补气活血组、补肾化痰组、补肾活血组血清 bFGF 水平降低，ECC-BYF Ⅲ组、扶正组血清 MMP-12 水平降低，ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍、氨茶碱组 BALF MMP-12、BALF COL-1 水平均降低，ECC-BYF Ⅲ组、补肾组、化痰组、活血组、扶正组、补气化痰组、补气活血组、补肾活血组、扶正化痰组、补气祛邪组、补肾祛邪组及氨茶碱组 BALF COL-3 水平均降低，差异有统计学意义（P<0.05），见表 3。

表 2 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠气道壁厚度及平均气道平滑肌细胞数的影响（$\bar{x} \pm s$）

Table 2 The effects of ECC-BYF Ⅲ and the component compatibility on airway wall thickness and mean number of airway smooth muscle cells in COPD rats

组别	只数	气道壁厚度（μm）	平均气道平滑肌细胞数（个/mm）
正常组	6	24.79 ± 4.70	14.65 ± 4.32
模型组	6	36.27 ± 4.27[a]	22.02 ± 3.79[a]
ECC-BYF Ⅲ组	6	23.09 ± 5.51[b]	15.66 ± 4.85[b]
补气组	6	17.79 ± 3.22[b]	21.93 ± 2.07
补肾组	6	19.44 ± 5.33[b]	21.93 ± 7.50
化痰组	6	19.46 ± 5.74[b]	20.96 ± 4.80
活血组	6	15.48 ± 5.37[b]	17.60 ± 8.28
扶正组	6	16.10 ± 2.47[b]	18.34 ± 7.72
祛邪组	6	17.64 ± 3.31[b]	20.21 ± 3.79
补气化痰组	6	15.64 ± 2.95[b]	16.38 ± 5.70[b]
补气活血组	6	17.60 ± 7.67[b]	18.39 ± 3.43
补肾化痰组	6	16.09 ± 4.32[b]	17.44 ± 3.44
补肾活血组	6	16.79 ± 3.56[b]	17.62 ± 5.89
扶正化痰组	6	14.11 ± 1.27[b]	15.02 ± 3.43[b]
扶正活血组	6	15.21 ± 1.51[b]	14.99 ± 1.87[b]
补气祛邪组	6	13.30 ± 1.61[b]	14.61 ± 3.22[b]
补肾祛邪组	6	15.57 ± 3.61[b]	16.88 ± 3.37
氨茶碱组	6	26.41 ± 8.03[b]	15.34 ± 2.35[b]
F 值		8.074	1.797
P 值		<0.001	0.040

注：[a] 表示与正常组比较 P<0.05，[b] 表示与模型组比较 P<0.05。

2.3 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠气道重塑干预的综合评价

因各组分配伍对各指标效应不同，本研究采用 R 值综合评价法对其进行综合评价。对大鼠血清及 BALF 中气道重塑相关指标 R 值综合评价结果显示，除化痰、祛邪、补肾化痰和扶正活血组分配伍外，ECC-BYF Ⅲ及其他组分配伍和氨茶碱组均能不同程度的纠正血清及 BALF 中气道重塑指标分泌（P<0.05），以补气祛邪、补气活血、扶正化痰组分配伍效果最佳。对 COPD 大鼠气道壁厚度、气道平滑肌增生情况、血清及 BALF 中所有气道重塑相关指标（总指标）进行 R 值综合评价结果显示，除化痰、祛邪组分配伍外，ECC-BYF Ⅲ及其余组分配伍和氨茶碱组均可改善 COPD 大鼠气道重塑（P<0.05），补气祛邪、扶正化痰、补气活血组分配伍效果较好，见表 4。

3 讨论

表 3 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠血清及 BALF 气道重塑指标的影响（$\bar{x} \pm s$，pg/mL）

Table 3 The effects of ECC-BYF Ⅲ and the component compatibility on indicators related to airway remodeling in the serum and BALF of COPD rats

组别	只数	血清 bFGF	血清 MMP-12	BALF MMP-12	BALF COL-1	BALF COL-3
正常组	6	247.27 ± 72.26	1 409.90 ± 469.53	406.70 ± 69.78	10.02 ± 2.05	447.22 ± 75.32
模型组	6	379.87 ± 87.18[a]	2273.86 ± 436.32[a]	794.00 ± 57.23[a]	15.76 ± 3.15[a]	707.03 ± 97.30[a]
ECC-BYF Ⅲ组	6	269.15 ± 74.42[b]	1518.10 ± 429.33[b]	391.37 ± 70.56[b]	10.18 ± 0.94[b]	440.50 ± 170.70[b]
补气组	6	369.73 ± 96.66	1951.16 ± 459.87	436.31 ± 58.85[b]	7.59 ± 2.78[b]	556.28 ± 145.62
补肾组	6	249.76 ± 70.18[b]	1712.37 ± 575.88	478.43 ± 71.13[b]	9.57 ± 2.24[b]	442.96 ± 28.53[b]
化痰组	6	304.80 ± 128.29	2541.04 ± 1187.88	402.52 ± 62.93[b]	9.24 ± 3.39[b]	454.00 ± 80.23[b]
活血组	6	382.35 ± 89.36	2124.54 ± 385.73	443.38 ± 58.35[b]	8.09 ± 2.27[b]	453.34 ± 136.21[b]
扶正组	6	370.1 ± 122.11	1782.55 ± 665.36[b]	483.56 ± 79.98[b]	8.15 ± 2.05[b]	351.09 ± 174.58[b]
祛邪组	6	300.32 ± 83.96	2135.79 ± 720.76	541.85 ± 68.56[b]	9.40 ± 0.68[b]	615.85 ± 191.74
补气化痰组	6	260.87 ± 61.84[b]	1910.99 ± 436.63	463.14 ± 97.12[b]	8.00 ± 2.28[b]	397.88 ± 111.35[b]
补气活血组	6	259.49 ± 81.83[b]	2081.8 ± 290.78	457.52 ± 38.90[b]	7.69 ± 0.89[b]	340.87 ± 48.82[b]
补肾化痰组	6	234.26 ± 30.57[b]	1924.36 ± 711.25	561.21 ± 105.46[b]	8.43 ± 1.57[b]	521.27 ± 74.28
补肾活血组	6	271.68 ± 110.95[b]	1975.62 ± 426.10	474.27 ± 55.06[b]	8.90 ± 2.06[b]	445.40 ± 109.16[b]
扶正化痰组	6	362.08 ± 133.30	1976.51 ± 402.24	452.36 ± 37.07[b]	8.63 ± 1.00[b]	388.74 ± 57.57[b]
扶正活血组	6	292.46 ± 120.40	2113.15 ± 624.37	511.87 ± 133.53[b]	8.98 ± 2.51[b]	499.46 ± 155.20
补气祛邪组	6	298.99 ± 55.01	1885.92 ± 468.08	272.71 ± 41.95[b]	6.06 ± 1.55[b]	379.20 ± 160.50[b]
补肾祛邪组	6	289.54 ± 64.57	2085.07 ± 668.93	455.32 ± 64.40[b]	7.99 ± 1.95[b]	373.59 ± 91.55[b]
氨茶碱组	6	285.16 ± 88.38	1920.86 ± 430.40	358.22 ± 44.99[b]	6.79 ± 1.03[b]	348.98 ± 82.71[b]
F 值		1.832	2.031	1.781	2.116	2.734
P 值		0.04	0.013	0.035	0.009	0.001

注：bFGF= 碱性成纤维细胞生长因子，MMP-12= 基质金属蛋白酶 12，BALF= 支气管肺泡灌洗液，COL-1= 胶原蛋白 1；[a] 表示与正常组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型组比较 $P<0.05$。

表 4 ECC-BYF Ⅲ及其组分配伍对 COPD 大鼠气道重塑干预的综合评价

Table 4 The comprehensive evaluation of ECC-BYF Ⅲ and the component compatibility on airway remodeling of COPD rats

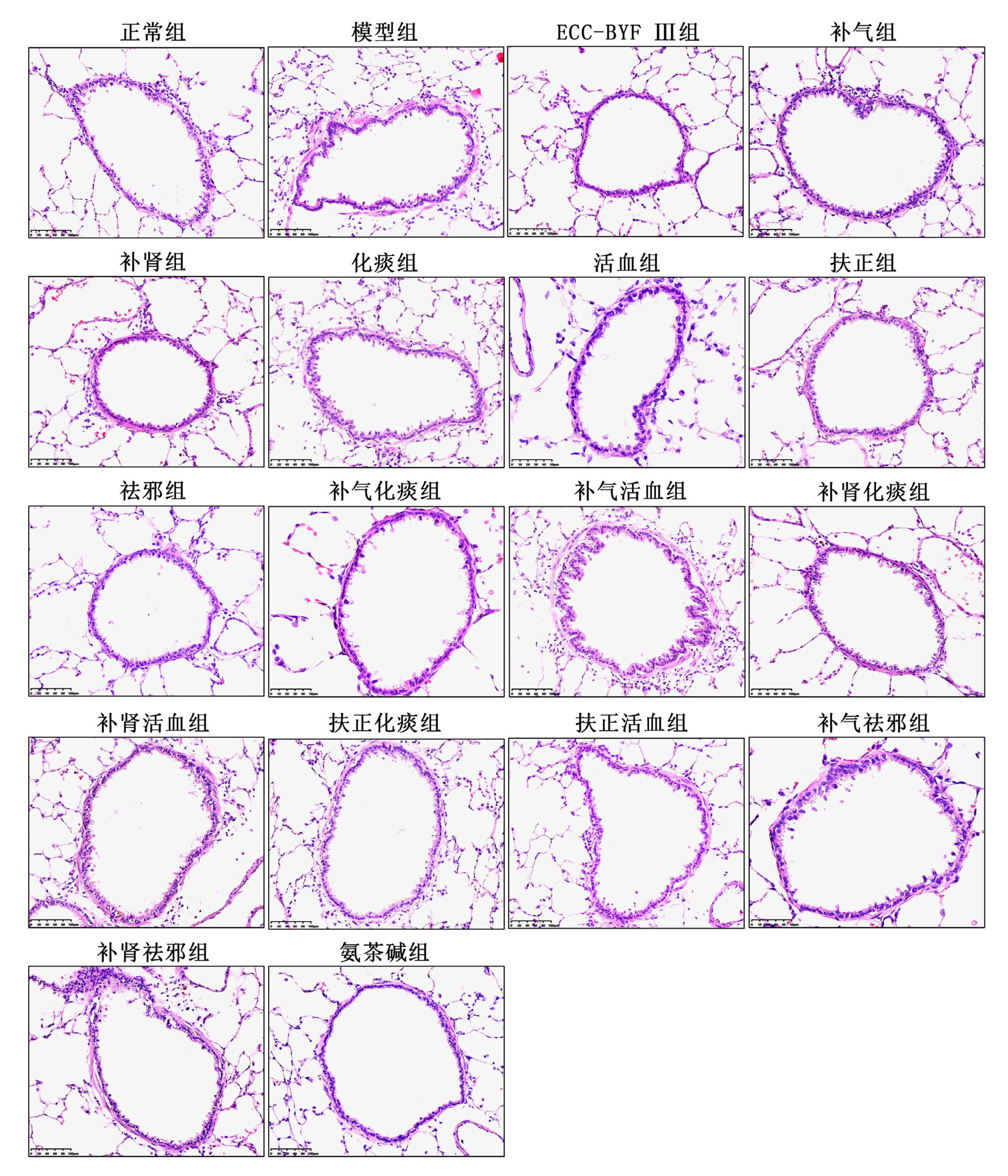
组别	指标数	R 综合（血清及 BALF 指标）	指标数	R 综合（总指标）
模型组	5	4.00 ± 0.00	7	4.00 ± 0.00
ECC-BYF Ⅲ组	5	3.25 ± 0.33[a]	7	3.19 ± 0.29[a]
补气组	5	3.24 ± 0.43[a]	7	3.18 ± 0.66[a]
补肾组	5	3.18 ± 0.41[a]	7	3.21 ± 0.52[a]
化痰组	5	3.47 ± 0.63	7	3.41 ± 0.62
活血组	5	3.30 ± 0.54[a]	7	3.20 ± 0.60[a]
扶正组	5	3.21 ± 0.40[a]	7	3.05 ± 0.71[a]
祛邪组	5	3.48 ± 0.60	7	3.32 ± 0.74
补气化痰组	5	3.21 ± 0.42[a]	7	3.03 ± 0.65[a]
补气活血组	5	2.93 ± 0.79[a]	7	2.98 ± 0.68[a]
补肾化痰组	5	3.35 ± 0.49	7	3.17 ± 0.60[a]
补肾活血组	5	3.26 ± 0.39[a]	7	3.12 ± 0.57[a]
扶正化痰组	5	3.01 ± 0.60[a]	7	2.69 ± 0.94[a]
扶正活血组	5	3.51 ± 0.40	7	3.04 ± 0.95[a]
补气祛邪组	5	2.90 ± 0.75[a]	7	2.61 ± 0.96[a]
补肾祛邪组	5	3.21 ± 0.59[a]	7	3.03 ± 0.68[a]
氨茶碱组	5	2.85 ± 0.74[a]	7	2.92 ± 0.63[a]
F 值		6.133		11.008
P 值		0.016		0.001

注：[a] 表示与模型组比较 $P<0.05$。

COPD 归属中医“肺胀”“喘病”等范畴，与“肺胀”最为接近。肺脏感邪，迁延失治，痰瘀稽留，损伤正气，肺脾肾三脏虚损，正虚卫外不固，外邪易反复侵袭而诱使本病发作，其主要病机为“正虚积损”，兼痰瘀闭阻[16]。正虚为肺肾气虚、阳虚或阴阳两虚，以肺虚为始、肾虚为基，气虚为本；积损是指痰瘀及其互结成积、日久损伤正气，正气渐损而积损难复。元代朱丹溪之《丹溪心法·咳嗽》曰：“肺胀而咳，或左或右不得眠，此痰夹瘀血碍气而病”，提示肺胀的发生与痰瘀互结，阻碍肺气有关。久病肺脾肾三脏亏虚，痰瘀互结，阻滞气道，使气道涩滞不利，肺气受阻，还于肺间，肺气胀满而失敛降。正虚为痰瘀形成的主要原因，血瘀痰阻，气道涩滞不利则是导致肺气受阻而形成肺胀的基础。这与 COPD 气道重塑引起气道狭窄、阻塞，进一步导致气流受限的机理一致。因此，可以认为 COPD 气道重塑的病机为久病正气虚损，痰瘀互结，阻塞气道，气道涩滞不利，即正虚血瘀痰阻。肺肾气虚证兼见痰瘀是 COPD 稳定期主要证候，补肺益肾佐以化痰祛瘀是其主要治则。ECC-BYF Ⅲ是在补肺益肾方的基础上优化筛选形成的，课题组前期动物实验研究结果显示，ECC-BYF Ⅲ可显著改善 COPD 大鼠肺功能，抑制炎症反应[17-18]，减轻气道重塑[13]。本研究旨在探讨 ECC-BYF Ⅲ对 COPD

气道重塑干预作用的配伍规律。

COPD 的主要特征为不可逆性气道重塑和气流受限，气道重塑是发生气流受限的主要病理基础，在 COPD 的形成和发展过程中有重要地位。COPD 患者气道管壁增厚变形，以平滑肌增厚最为显著，导致气道管腔狭窄和气流阻力增加。气道重塑主要表现为气道壁增



注：ECC-BYF= 补肺益肾组分方。

图 1　各组大鼠气道病理变化（HE×200）

Figure 1　Pathological changes of airway of rats in all groups

厚、气道平滑肌细胞增殖及细胞外基质沉积。在COPD气道重塑中，小气道平滑肌细胞增生肥大，数目显著增多，变化突出[19-20]。本研究结果显示，模型组大鼠气道壁明显增厚，气道平滑肌细胞显著增多，说明香烟烟雾暴露联合反复细菌感染的方法诱导的COPD大鼠存在气道重塑。ECC-BYF Ⅲ干预组大鼠气道壁厚度较模型组明显变薄，气道平滑肌细胞数减少，提示ECC-BYF Ⅲ对COPD气道重塑有显著纠正作用。

COPD气道重塑是损伤/修复的反复过程，机制复杂，涉及多种因子和多个环节。bFGF是具有较强丝裂原活性的多肽分子，可促进平滑肌细胞、成纤维细胞及血管内皮细胞等生长、增殖和分化，并趋化成纤维细胞、内皮细胞参与损伤组织的重建和修复[21-22]。bFGF还能激活成纤维细胞，使胶原合成增加并堆积于气道壁和血管壁细胞外基质中，加重气道重塑。血清bFGF的表达与COPD急性加重期患者气道阻塞程度密切相关[23]。基质金属蛋白酶（MMPs）可降解细胞外基质和基底膜的多种蛋白成分，参与气道重塑。在香烟烟雾、细菌等刺激下，MMPs分泌增多，降解细胞外基质中的胶原蛋白，破坏细胞外基质成分，促进细胞外基质沉积，加速气道重塑[24-25]。本研究结果显示，COPD大鼠血清中bFGF、MMP-12水平显著升高，且BALF中MMP-12、COL-1、COL-3水平显著升高。这可能与bFGF的高表达促进胶原蛋白的合成与沉积有关。bFGF高表达加重气道平滑肌细胞的增生，平滑肌细胞收缩使管腔狭窄，细胞外基质过度沉积限制了管腔扩张，共同促进COPD气道重塑。ECC-BYF Ⅲ干预组大鼠bFGF、MMP-12、COL-1、COL-3水平均显著降低，提示ECC-BYF Ⅲ对COPD气道重塑的干预作用可能与调节bFGF、MMP-12分泌、减轻细胞外基质沉积有关。

为了探讨ECC-BYF Ⅲ组分配伍对COPD气道重塑的配伍规律，本研究还检测了不同组分配伍对气道重塑相关指标的影响，结果显示不同组分配伍对相关指标有不同的影响。R值综合评价发现，在对大鼠血清及BALF中气道重塑相关的影响方面，除化痰、祛邪、补肾化痰和扶正活血组分配伍外，ECC-BYF Ⅲ及其他组分配伍均能不同程度的纠正血清及BALF中气道重塑指标分泌，以补气祛邪、补气活血、扶正化痰效果最佳。对所有指标进行R值综合评价，结果显示，除化痰、祛邪外，余组分配伍可显著纠正COPD大鼠气道重塑，作用较强的为补气祛邪、扶正化痰、补气活血组分配伍。补气祛邪、扶正化痰、补气活血组分配伍均含补气类组分人参皂苷Rh1和黄芪甲苷。因此，可以认为含补气类组分（人参皂苷Rh1和黄芪甲苷）的配伍对COPD大鼠气道重塑有较好的纠正作用。

综上所述，ECC-BYF Ⅲ中不同组分配伍对COPD气道重塑指标有不同的作用，含补气类（人参皂苷Rh1和黄芪甲苷）的组分配伍对COPD大鼠气道重塑有较好的纠正作用，但其作用机制有待于进一步研究。本研究基于ECC-BYF Ⅲ的良好疗效，评价不同组分配伍对COPD大鼠气道重塑的干预特点，为组分方的配伍规律及优化治法研究提供思路。但是，COPD气道重塑机制较复杂，本研究仅从体内实验评价ECC-BYF Ⅲ不同组分配伍对COPD气道重塑的配伍规律，后续研究需要基于体外模型，评价其疗效特点，深入探讨机制，为补肺益肾组分方的临床应用及新药研发提供基础。

作者贡献：李建生提出“组分配伍”的研究思路，设计研究方案；秦燕勤、董浩然进行动物饲养、药物干预、肺功能检测及气道重塑指标测定；杨静帆、李海博负责肺组织病理检测；秦燕勤、杨静帆负责实验数据收集及统计分析；秦燕勤负责论文起草；赵鹏、李建生负责论文修改；秦燕勤、李建生负责最终版本修订，对论文负责。

本文无利益冲突。

秦燕勤：https://orcid.org/0000-0002-7313-1576
李建生：https://orcid.org/0000-0002-6485-2371

参考文献

[1] YANG I A，JENKINS C R，SALVI S S. Chronic obstructive pulmonary disease in never-smokers：risk factors，pathogenesis，and implications for prevention and treatment[J]. Lancet Respir Med，2022，10（5）：497-511. DOI：10.1016/S2213-2600（21）00506-3.

[2] RUSTAM S，HU Y，MAHJOUR S B，et al. A unique cellular organization of human distal airways and its disarray in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med，2023，207（9）：1171-1182. DOI：10.1164/rccm.202207-1384OC.

[3] HIROTA N，MARTIN J G. Mechanisms of airway remodeling[J]. Chest，2013，144（3）：1026-1032. DOI：10.1378/chest.12-3073.

[4] AGHASAFARI P，GEORGE U，PIDAPARTI R. A review of inflammatory mechanism in airway diseases[J]. Inflamm Res，2019，68（1）：59-74. DOI：10.1007/s00011-018-1191-2.

[5] KUME H，YAMADA R，SATO Y，et al. Airway smooth muscle regulated by oxidative stress in COPD[J]. Antioxidants，2023，12（1）：142. DOI：10.3390/antiox12010142.

[6] JONES R L，NOBLE P B，ELLIOT J G，et al. Airway remodelling in COPD：it's not asthma![J]. Respirology，2016，21（8）：1347-1356. DOI：10.1111/resp.12841.

[7] LI J S，XIE Y，LI S Y，et al. Comparison of conventional medicine，TCM treatment，and combination of both conventional medicine and TCM treatment for patients with chronic obstructive pulmonary disease：study protocol of a randomized comparative effectiveness research trial[J]. Trials，2014，15：153. DOI：

10.1186/1745-6215-15-153.
[8] YU X Q，WANG M H，LI J S，et al. Effect of comprehensive therapy based on Chinese medicine patterns on self-efficacy and effectiveness satisfaction in chronic obstructive pulmonary disease patients［J］. Chin J Integr Med，2019，25（10）：736-742. DOI：10.1007/s11655-017-2417-9.
[9] ZHAO P，LI J S，YANG L P，et al. Integration of transcriptomics，proteomics，metabolomics and systems pharmacology data to reveal the therapeutic mechanism underlying Chinese herbal Bufei Yishen formula for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease［J］. Mol Med Rep，2018，17（4）：5247-5257. DOI：10.3892/mmr.2018.8480.
[10] LI J S，LIU X F，DONG H R，et al. Effective-constituent compatibility-based analysis of Bufei Yishen formula，a traditional herbal compound as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease［J］. J Integr Med，2020，18（4）：351-362. DOI：10.1016/j.joim.2020.04.004.
[11] LI J S，MA J D，TIAN Y G，et al. Effective-component compatibility of Bufei Yishen formula II inhibits mucus hypersecretion of chronic obstructive pulmonary disease rats by regulating EGFR/PI3K/mTOR signaling［J］. J Ethnopharmacol，2020，257：112796. DOI：10.1016/j.jep.2020.112796.
[12] 李建生，秦燕勤，田燕歌，等. 补肺益肾组分方Ⅱ活性成分优化及组分方Ⅲ的建立［J］. 中华中医药杂志，2023，38（6）：2526-2532.
[13] LIU L，QIN Y Q，CAI Z H，et al. Effective-components combination improves airway remodeling in COPD rats by suppressing M2 macrophage polarization via the inhibition of mTORC2 activity［J］. Phytomedicine，2021，92：153759. DOI：10.1016/j.phymed.2021.153759.
[14] LI Y，LI S Y，LI J S，et al. A rat model for stable chronic obstructive pulmonary disease induced by cigarette smoke inhalation and repetitive bacterial infection［J］. Biol Pharm Bull，2012，35（10）：1752-1760. DOI：10.1248/bpb.b12-00407.
[15] 李建生，崔红新，田燕歌，等. 调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病稳定期模型大鼠肺胶原和蛋白酶调节作用的 R 值综合评价［J］. 中医杂志，2014，55（11）：949-954. DOI：10.13288/j.11-2166/r.2014.11.014.
[16] 李建生. 正虚积损为慢性阻塞性肺疾病的主要病机［J］. 中华中医药杂志，2011，26（8）：710-713.
[17] LI J S，XIE Y，ZHAO P，et al. A Chinese herbal formula ameliorates COPD by inhibiting the inflammatory response via downregulation of p65，JNK，and p38［J］. Phytomedicine，2021，83：153475. DOI：10.1016/j.phymed.2021.153475.
[18] QIN Y Q，ZHAI J N，YANG J F，et al. Effective-component compatibility of Bufei Yishen formula alleviates chronic obstructive pulmonary disease inflammation by regulating GSK3β-mediated NLRP3 inflammasome activation［J］. Biomedecine Pharmacother，2023，168：115614. DOI：10.1016/j.biopha.2023.115614.
[19] KO F W S，SIN D D. Twenty-five years of respirology：advances in COPD［J］. Respirology，2020，25（1）：17-19. DOI：10.1111/resp.13734.
[20] STAMATIOU R，PARASKEVA E，VASILAKI A，et al. The muscarinic antagonist gallamine induces proliferation of airway smooth muscle cells regardless of the cell phenotype［J］. Pharmacol Rep，2019，71（2）：225-232. DOI：10.1016/j.pharep.2018.10.010.
[21] GE Z X，LI B，ZHOU X，et al. Basic fibroblast growth factor activates β-catenin/RhoA signaling in pulmonary fibroblasts with chronic obstructive pulmonary disease in rats［J］. Mol Cell Biochem，2016，423（1/2）：165-174. DOI：10.1007/s11010-016-2834-7.
[22] OTSUKI Y，GO T，KATO A，et al. Regeneration of emphysematous lungs using gelatin sheets that release basic fibroblast growth factor［J］. Surg Today，2022，52（8）：1229-1235. DOI：10.1007/s00595-022-02465-z.
[23] PAVLISA G，PAVLISA G，KUSEC V，et al. Serum levels of VEGF and bFGF in hypoxic patients with exacerbated COPD［J］. Eur Cytokine Netw，2010，21（2）：92-98. DOI：10.1684/ecn.2010.0193.
[24] CHRISTOPOULOU M E，PAPAKONSTANTINOU E，STOLZ D. Matrix metalloproteinases in chronic obstructive pulmonary disease［J］. Int J Mol Sci，2023，24（4）：3786. DOI：10.3390/ijms24043786.
[25] HAO W D，LI M X，ZHANG Y Q，et al. Expressions of MMP-12，TIMP-4，and neutrophil elastase in PBMCs and exhaled breath condensate in patients with COPD and their relationships with disease severity and acute exacerbations［J］. J Immunol Res，2019，2019：7142438. DOI：10.1155/2019/7142438.

（收稿日期：2024-01-05；修回日期：2024-03-21）
（本文编辑：康艳辉）